

Dr. R. Garcia-Faure, Dr. F. Garcia-Olmedo, J.M. Vallejo-Acevedo, Instituto Nacional Investigaciones agronomicas, Madrid, Spanien

Die Verteilung von Sitosterylpalmitat im Weizenkorn

Die Ermittlung und Mengenbestimmung der Anteile an Triticum-aestivum-Produkten in Mehl, Grieß oder Makkaroni ist ein vom Standpunkt der Qualitäts- und Marktkontrolle interessantes Problem. Mit Zunahme des Sitosterylpalmitat-Gehaltes scheint keiner der physikalischen und chemischen Unterschiede zwischen Endosperm von T. aestivum und T. durum heute für eine derartige Differenzierung bedeutend genug zu sein.

Schon 1963 fand RITTENHAUSEN (1) einen cholesterollähnlichen Stoff im Weizenkleber. BALL (2) berichtete über eine ähnliche Substanz in Weizenmehl. WALDE und MANGELS (3) beobachteten, daß bei 0°C in Azetonextrakten aus T. aestivum ein Niederschlag gebildet wurde, der bei T. durum nicht auftrat. Durch Versuche identifizierten diese Autoren den Niederschlag als einen Sterylester, und SPIELMANN stellte schließlich fest, daß es sich um ein Gemisch von Sterylpalmitaten handelte (4).

Nach WALD und MANGEL überprüfte MATWEEF (5) das Auftreten von Sitosterylpalmitat in etlichen T.-aestivum- und T.-durum-Arten und schlug die gravimetrische oder kolorimetrische Bestimmung als ein Hilfsmittel zur mengenmäßigen Bestimmung von T.-aestivum-Produkten in Makkaroni vor. Verschiedene Autoren befaßten sich mit der Verbesserung von MATWEEFs Verfahren und GILLES und YOUNG (6) berichteten über eine dünnschichtchromatographische Methode zur Abschätzung des Gehaltes an Sitosterylpalmitat.

In unserem Laboratorium wurden zwei Methoden für die Sitosterylpalmitatbestimmung entwickelt:

a) eine Modifikation des MATWEEF-Verfahrens, das die Verwendung eines stabilen Reagens vorsieht und eine bessere kolorimetrische Bestimmung ermöglicht (7),

b) eine Methode, die auf der Abtrennung des Sitosterylpalmitats auf mit Silbernitrat imprägnierten Dünnschichtplatten und einer empfindlichen kolorimetrischen Auswertung beruht (8).

Beurteilung des bestimmbaren Minimalanteils von T. aestivum

Mit der ersten Methode wurden zahlreiche spanische Weizensorten untersucht (7). Mit der zweiten Methode erhielten wir genauere Daten für alle verfügbaren spanischen und etliche USA-Sorten (Abb. IX/1).

Als unmittelbare Schlußfolgerung kann man aus den Ergebnissen ableiten, daß ein Sitosterylpalmitat-Gehalt von mehr als 1,5 mg/100 g eindeutig eine Verunreinigung der Makkaroni durch T. aestivum-Produkte anzeigt. Da in der Spanne von 0 ... 1,5 mg/100 g auch drei T. aestivum-Sorten eingeschlossen sind, garantiert ein Gehalt unter 1,5 mg/100 g nicht die Reinheit. Für einen gegebenen Sitosterylpalmitat-Gehalt läßt sich der Minimalprozentsatz des in den Teigwaren enthaltenen Anteils an T. aestivum-Produkten anhand des Maximalgehaltes der für T. aestivum-Sorten festgestellt wurde, berechnen (Abb. IX/1). In ähnlicher Weise kann die "durchschnittliche" Verunreinigung über den mittleren Gehalt der untersuchten T. aestivum-Sorten ermittelt werden. Man kann sich darüber streiten, ob das ein idealer Test ist, da er einige Ausnahmen einschließt. Trotzdem müssen Ausnahmen bei derartigen biochemischen Differenzen erwartet werden und man sollte beachten, daß das Auffinden eines weiteren biochemischen Unterschieds, der ebenso allgemein verbreitet ist wie der Sitosterylpalmitat-Gehalt, wahrscheinlich das Problem der jetzt noch nicht feststellbaren T. aestivum-Sorten lösen würde. Unsere weiteren Bemühungen sind mit ermutigenden Ergebnissen auf dieses Ziel gerichtet.

Verteilung des Sitosterylpalmitats in Mahlfractionen

Wenn die Mahlausbeute erhöht wird, gelangt eine größere Menge von Partikeln aus den äußeren Schichten des Endosperms und aus der Kleie in das Mehl. Da die Zusammensetzung dieser äußeren Schichten und der Kleie sich von der des reinen Endosperms unterscheidet, ist es klar, daß die Mahlausbeute die chemische Zusammensetzung des Mehls beeinflussen wird. Abweichungen im Gehalt eines bestimmten Stoffes im Mehl als Folge von Veränderungen der Mahlausbeute werden deutlicher werden, je größer die Unterschiede zwischen dem Endospermgehalt und dem der anderen Fraktionen sind.

Die Verteilung des Sitosterylpalmitats in den Mahlfractionen des T.durum- und des T.aestivum-Weizens und seine Beziehung zur Mahlausbeute und dem Sitosterylpalmitatgehalt des Mehls sind von uns untersucht worden.

Die Tabellen 1, 2 und 3 geben den prozentualen Anteil der Mahlfractionen und ihren Asche-, Fett- und Sitosterylpalmitat-Gehalt für die drei untersuchten Sorten Magdalena, Aragon o3 (T. aestivum) und Hibrido-D (T. durum). Das Verhalten während des Mahlens der zwei T. aestivum-Sorten ist sehr ähnlich, unterscheidet sich aber von dem der T. durum-Art, wo größere Endospermpartikel gebildet werden, die den prozentualen Anteil der letzten beiden Auflösungen und des nachgemahlten Mehls erhöhen.

Der Sitosterylpalmitat-Gehalt wird vom I. bis zum III. Schrot und von der 1. bis zur 3. Auflösung bei allen Proben etwas geringer mit Ausnahme des Aragon-o3, wo zwischen der 2. und der 3. Auflösung kein echter Unterschied zu beobachten war. Das nachgemahlene Mehl hat einen Sitosterylpalmitat-Gehalt, der gerade über dem des gemischten Auflösungs- und Schrotmehls bei Hibrido-D (durum) und etwas unter dem bei Magdalena und Aragon-o3 (aestivum) liegt. Der Gehalt im Futtermehl liegt weit unter diesem Wert und der der Kleie ist zwei- bis dreimal geringer.

Bei Aragon-o3 und Hibrido-D sinkt der Aschegehalt vom I. bis zum III. Schrot, steigt aber bei Magdalena. Er steigt auch bei Magdalena und Aragon-o3 zwischen der 1. und der 3. Auflösung, sinkt aber bei Hibrido-D.

Vom I. bis zum III. Schrot nimmt bei allen drei Arten der Fettgehalt zu, auch von der 1. bis zur 3. Auflösung bei Magdalena und Hibrido-D, nicht aber bei Aragon-o3. Fett- und Aschegehalt nehmen bei dem Mehl aus den Mahlungen, Futtermehl und Kleie bei den drei Arten zu.

In Abb. IX/2 sind die Mahlfractionen vom niedrigeren zum hohen Aschegehalt eingezeichnet, die Durchschnittswerte für Asche und den Sitosterylpalmitat-Gehalt der nacheinander gesammelten Fraktionen wurden graphisch gegen die Mahlausbeute dargestellt. Fett- und Sitosterylpalmitat-Gehalt der wie oben gesammelten Fraktionen sind in gleicher Weise in Abb. IX/3 dargestellt.

Von den drei Sorten wurden typische Aschekurven erzielt (Abb. IX/2), wobei die Kurven von Aragon o3 und Magdalena sich praktisch überlagerten. Die Kurve von Hibrido-D lag beträchtlich über dem Wert, den man für einen T.durum-Weizen erwarten würde.

Die maximalen Unterschiede des Sitosterylpalmitat-Gehaltes liegen bei 21 % des Mehlwertes für Magdalena, bei 12 % für Aragon-o3 und bei 10 % für Hibrido-D. Die Abweichungen zwischen den Sorten sind geringer als zwischen den Gruppen von T. durum, T.aestivum mit niedrigem Palmitatgehalt und T. aestivum mit hohem Palmitatgehalt. Ein Ansteigen der Mahlausbeute von 75 auf 80 %, das ein rasches Anwachsen des Aschegehaltes mit sich bringt, beeinflusst den Sitosterylpalmitat-Gehalt nicht wesentlich.

Tabelle 1
M a g d a l e n a (.)

Mahlfraktionen	Anteil der Fraktion %	Asche %	Fett %	Sitosterylpalmitat mg/100 g
I. Schrot	11,0	0,54	0,55	13,0
II. "	10,5	0,59	0,75	11,5
III. "	1,8	0,75	1,15	10,8
1. Mahlung	38,5	0,52	1,20	13,9
2. "	4,9	0,58	1,45	11,7
3. "	1,3	0,64	1,80	11,2
Mehl	68,0	0,55	1,05	13,1
nachgemahlenes Mehl	7,9	1,14	1,85	11,3
Futtermehl	9,0	3,16	4,60	8,2
Kleie	14,4	6,41	5,90	4,1
Ganzkorn	99,4	1,68	2,08	11,1

(.) Alle Werte beziehen sich auf Trockensubstanz

Tabelle 2
A r a g o n - o 3 (.)

Mahlfraktionen	Anteil der Fraktion %	Asche %	Fett %	Sitosterylpalmitat mg/100 g
I. Schrot	8,5	0,70	0,75	10,2
II. "	8,6	0,61	0,90	9,0
III. "	1,9	0,62	1,05	7,3
1. Mahlung	43,1	0,54	1,40	9,5
2. "	6,1	0,55	1,35	8,6
3. "	1,7	0,58	0,95	8,9
Mehl	69,9	0,57	1,23	9,4
nachgemahlenes Mehl	8,0	1,01	1,45	9,1
Futtermehl	8,6	2,88	2,90	6,9
Kleie	13,3	6,94	4,15	4,7
Ganzkorn	99,8	1,65	1,78	8,5

(.) Alle Werte beziehen sich auf Trockensubstanz

Tabelle 3
H i b r i d o - D (.)

Mahlfraktionen	Anteil der Fraktion %	Asche %	Fett %	Sitosterylpalmitat mg/100 g
I. Schrot	2,9	0,88	0,85	1,1
II. "	4,2	0,83	1,05	0,8
III. "	1,1	0,74	1,60	0,6
1. Mahlung	24,9	0,75	1,30	1,0
2. "	11,4	0,63	1,40	0,9
3. "	5,1	0,57	1,75	0,8
Mehl	49,6	0,72	1,33	0,9
nachgemahlenes Mehl	20,2	1,12	1,45	1,0
Futtermehl	18,5	3,60	4,60	0,5
Kleie	10,8	5,59	5,80	0,5
Ganzkorn	99,1	1,87	2,45	0,8

(.) Alle Werte beziehen sich auf Trockensubstanz

Die Angaben in Abb. IX/3 zeigen, daß sich der Sitosterylpalmitat-Gehalt nicht parallel zum Fettgehalt verändert, wenn die Mahlausbeute ansteigt. Bei den drei Arten konnte kein gleiches Verhalten bezüglich der Fettgehaltveränderungen beobachtet werden: bei Aragon-o3 und Hibrido-D wurde ein anfängliches Absinken gemessen, während bei der Sorte Magdalena keine wesentliche Veränderung zu verzeichnen war. Da der Fettgehalt stark von der Mahlausbeute abhängt, erscheint es nicht vorstellbar, den Sitosterylpalmitat-Gehalt zum Fettgehalt in Beziehung zu setzen.

Weiterhin wurden reine Keime und entkeimte Samen untersucht, die manuell entkeimt worden waren. Obwohl im Vergleich ein zum Restkorn höherer Anteil an Sitosterylpalmitat vorkommt, so ist dieser Anteil doch nicht groß genug, um den Anteil am Sterylester in der Kleie und im Futtermehl zu beeinflussen.

Versuche

Mehlproben: Bei dieser Untersuchung wurden zwei T. aestivum-Sorten verwendet, die sich in ihrem Sitosterylpalmitatgehalt unterscheiden: Magdalena (11,1 mg/100 g) und Aragon-o3 (8,5 mg/100 g) und eine T. durum Sorte: Hibrido-D (0,8 mg/100 g). Die Proben von je 2 kg wurden in einer Bühler-Versuchsmühle normal vermahlen. Dabei erzielte man drei Schrotmehle und drei Auflösungsmehle sowie Kleie und Futtermehl. Kleie und Futtermehl wurden zusammengeschüttet und noch einmal durch die Mühle geführt, dabei ergaben sich drei nachgemahlene Fraktionen: Mehl, Kleie und Futtermehl.

Methoden: Der Sitosterylpalmitat-Gehalt wurde mit der vorher beschriebenen Methode (8) bestimmt, das mit dem Soxhlet-Verfahren extrahierte Lipoid wird durch vorher bereitetes mit Silber versetztes TLC, für das zum Entwickeln Tetrachlorkohlenstoff verwendet wurde, fraktioniert. Das abgetrennte Sitosterylpalmitat wird mit Chloroform geschlämmt und mit Hilfe der TSCHUGAREFF - kolorimetrischen Reaktion ausgewertet. Das Lipoid aus 1 g Mehl von den T. aestivum-Arten und aus 3 g der T. durum Art wurde fraktioniert. Bei allen untersuchten Fraktionen wurden Aschegehalt durch die ICC-Methode (9) und Fettgehalt durch die AACC-Methode (10) bestimmt.

Schlußbemerkung

Basierend auf einer Auswertung von Untersuchungen an 37 T. aestivum- und 12 T. durum-Sorten kann festgestellt werden, daß der Nachweis geringer Anteile von T. aestivum in einer Mischung mit T. durum abhängig ist von dessen Sitosterylpalmitat-Gehalt.

Eine Untersuchung der Verteilung dieser Substanz in den Mahlfractionen hat zu den folgenden Schlußfolgerungen geführt: Sowohl bei den T. durum- als auch bei den T. aestivum-Sorten ist der Sitosterylpalmitat-Gehalt im Endosperm 2-3 mal höher als in den Randschichten. Manuell gewonnene Keime enthalten höhere Anteile als der restliche Samen. Sowohl bei Mehl als auch bei Kleie ist der Sitosterylpalmitat-Gehalt bei T. aestivum höher als bei T. durum. Die festgestellten Anteile an dem Sterylester im nachgemahlene Mehl sowie in bestimmten Mahlfractionen deuten auf eine ziemlich gleichmäßige Verteilung von den inneren zu den äußeren Schichten des Endosperms hin.

Daher kann in bezug auf das relative Verhältnis der einzelnen Mahlfractionen und ihres Sitosterylpalmitat-Gehaltes gesagt werden, daß Abweichungen innerhalb der normalen Grenzen der Mahlausbeute keinen ausschlaggebenden Einfluß auf den Sitosterylwert ausüben. In jedem Falle sind jedoch Veränderungen auf Grund wesentlicher Abweichungen in der Mahlausbeute geringer als Unterschiede zwischen den Sorten wie T. durum und T. aestivum mit hohem und niedrigem Sitosterylpalmitat-Gehalt.

Literatur

1. RITTENHAUSEN, H.
J. Prakt. Chem. 88 (1863), S. 145
2. BAILL, C.D.
A study of wheat oil.
Cereal Chem. 3 (1926), S. 19-39
3. WALDE, A.W., MANGELS, C.E.
Variation in properties of acetone extracts of common and durum wheat flours.
A preliminary report. Cereal Chem. 7 (1930), S. 480-486
4. SPIELMAN, M.A.
The sitosterol esters in wheat flour oil.
Cereal Chem. 10 (1933), S. 239-242
5. MATWEEF, M.
Détection des farines de blé tendre dans le semoules et pâtes alimentaires.
C.R.Ac. Agr. de France 39 (1952), S. 658-662
6. GILLES, K.A.; YOUNG, V.L.
Evaluation of Durum wheat and Durum products
II. Separation and identification of the sitosteryl esters of semolina
Cereal Chem. 41 (1964) 6, S. 502
7. GARCIA-FAURE, R.; GARCIA-OLMEDO, F.; SOTELO ABOY, I.; SALTO ANDREU, M.
Identificación de productos de Triticum aestivum en las pastas alimenticias.
II. Determinación colorimétrica del palmitato de sitosterol.
Bol. I.N.I.A. 379 (1965), S. 395-408
8. GARCIA-OLMEDO, F.
III. Determinación del palmitato de sitosterol por cromatografía en capa fina
y su posible utilización como índice de interacción genómica.
Bol. I.N.I.A. 379 (1965), S. 409-416
9. Procedure for the Ash Determination of flour. ICC Methods; June (1960)
10. Crude fat in flour, bread, and baked cereal products. Cereal Laboratory Methods
AACC 7th ed. (1962)

Zusammenfassung

Der Sitosterylpalmitat-Gehalt der meisten Sommerweizensorten ist wesentlich höher als der von Durumweizen. Diese klare Abgrenzung ermöglicht die halbquantitative Bestimmung von Sommerweizenprodukten, wenn sie mit Durumweizenprodukten in Grieß, Mehl oder Teigwaren vermischt vorliegen. Die Verteilung dieser Substanz im Weizenkorn ist untersucht worden, um ihren Einfluß auf die geschätzten Werte von verschiedenen Produkten und Gemischen festzustellen.

Von drei Sommerweizensorten und einer Durumweizensorte wurden neun Fraktionen, die durch Versuchsvermahlung gewonnen wurden, und das Ganzkorn analysiert. Reine Keime und entkeimte Körner, die durch Handauslesung gewonnen wurden, sind ebenfalls analysiert worden. Bei der Sitosterylpalmitat-Bestimmung wurde eine dünnschichtchromatographische Methode angewandt, bei der mit Silbernitrat imprägnierte Silicagel-Platten verwendet wurden. Dieses Verfahren ist bereits von uns beschrieben worden.

Die Werte, die für den Keim erhalten wurden, liegen etwas höher als die für das Endosperm, der Gehalt für die Samenschalen ist niedriger. Betrachtet man den relativen Anteil jeder untersuchten Fraktion und ihren Sitosterylpalmitat-Gehalt, kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß Veränderungen der Ausmahlungsgrade in den normalen Grenzen keinen schwerwiegenden Einfluß auf den Sitosterylpalmitat-Gehalt haben.

С о д е р ж а н и е

Содержание ситостерил-пальмитата в большинстве сортов яровой пшеницы значительно выше чем у сортов дурум. Это точное подразделение позволяет полуколичественное определение продуктов яровой пшеницы, если они смешаны с продуктами из дурум пшеницы как крупки, мука или макаронные изделия. Исследовано распределение этого вещества в пшеничном зерне, чтобы определять его влияние на предположенные результаты разных продуктов и смесей.

Анализировали 9 фракций, полученных опытным помолом, и целое зерно трех сортов яровой пшеницы и одного сорта дурума. Также исследовали чистые зародыши, зерна без зародыша, полученные при ручном выборе. Для определения ситостерил-пальмитата применяли хроматографический метод с тонким слоем с пластинками из силикагеля, пропитанными азотнокислым серебром. Этот способ мы уже описали.

Значения для зародыша немного выше чем значения для эндосперма; содержание семенных оболочек меньше. Рассматривая относительно часть каждой исследованной фракции и ее содержание ситостерил-пальмитата, можно заключить, что изменения степени вымола в нормальных пределах не имеет никакого важного влияния на содержание ситостерил-пальмитата.

S u m m a r y

Sitosteryl palmitate content of most T. aestivum varieties is considerably higher than that of T. durum. This sharp difference allows the semiquantitative determination of T. aestivum products when mixed with T. durum products such as semolina, flour or macaroni. Distribution of this substance in the wheat kernel has been investigated in order to check its influence on the estimated values for different products and mixtures.

Nine fractions obtained by experimental milling, as well as the whole kernel, have been analyzed in three T. aestivum varieties and one T. durum. Pure germ and degerminated seed obtained by hand dissection also have been analyzed. A thin layer chromatography method on silica gel plates impregnated with silver nitrate, as previously described by us, has been employed in the sitosteryl palmitate determinations.

Somewhat higher values are obtained for the germ as compared with endosperm, the content of the seed coats being lower. Considering the relative proportion of each fraction studied and their sitosteryl palmitate content it can be concluded that variations within normal limits of extraction rate have no significant influence on sitosteryl palmitate content.

R é s u m é

La teneur en palmitat-sitosteryl de la plupart des sortes du froment d'été est bien plus élevée que celle du blé dur. Cette délimitation claire rend possible une détermination demi-quantitative des produits du froment d'été s'ils arrivent en mélanges avec des produits du blé dur en semoule, en farine ou en pâtes alimentaires. La distribution de cette substance dans le grain du froment a été examinée pour savoir son influence sur les valeurs supposées de différents produits et de mélanges.

A trois sortes du blé d'été et chez une sorte du blé dur on a analysé neuf groupes obtenus par mouture d'essai, et le grain entier. Des germes pures et des grains dégermés obtenus par séparation par main ont été également analysés. Pour la détermination du palmitat-sitosteryl on a appliqué une méthode chromatographique en couche mince, où on a utilisé des plaques de silicagel imprégné avec azotate d'argent. Nous avons déjà décrit ce procédé.

Les valeurs obtenues pour le germe sont un peu plus élevées que celles-ci pour l'endosperme, la teneur pour les téguments séminaux est plus basse. Si l'on regarde la part relative de chaque groupe examiné et sa teneur en palmitat-sitosteryl, on en peut tirer la conclusion que les changements des taux d'extraction dans les limites normales n'ont pas d'influence décisive sur la teneur en palmitat-sitosteryl.